蝶と蛾 *Trans. lepid. Soc. Japan* **60** (2): 128–134, March 2009

アカボシゴマダラ(名義亜種)幼虫における低温による発育プログラムの変更

加藤　義臣

181-8585　東京都三鷹市大沢 3-10-2　国際基督教大学生命科学デパートメント; e-mail: kato@icu.ac.jp

Modification of larval developmental program by low temperature in the alien nymphalid butterfly *Hestina assimilis assimilis* inhabiting Kanagawa Prefecture, central Japan

Yoshiomi Kato

Department of Life Science, International Christian University,
3-10-2 Osawa, Mitaka, Tokyo 181-8585, Japan; e-mail: kato@icu.ac.jp

Abstract Larval development and diapause of the alien nymphalid butterfly *Hestina assimilis assimilis*, which was accidentally introduced into Kanagawa Prefecture, central Japan were re-investigated under various temperature conditions at a short and long photoperiod. In particular, influence of low temperature (15°C) linked with long photoperiod (16L-8D) on larval diapause induction was studied. First, when larvae were kept at 15°C, most of the larvae entered a diapause state mainly at the 4th instar irrespective of a long photoperiod while all larvae normally entered a diapause state at a short photoperiod. At 20°C or 25°C, photoperiodic response was clear and similar to the results in the previous experiments (Kato and Miyauchi, 2008). Second, low temperature treatment under a long photoperiod was carried out at a particular developmental stage. The results showed that low temperature treatment at single larval instar stage had little effect on diapause induction, but the treatment of successive instars (such from 2nd, 3rd or 4th instar) was effective, and the longer the treated duration, the higher the diapause ratio. These results suggest that low temperature alone is responsible for larval diapause induction of this subspecies. Further, some larvae in which diapause had been induced by low temperature associated with a long photoperiod had a long or intermediate type horn, and their body color frequently was green, suggesting that diapause programs of the larvae are easily modified by these temperature conditions. In addition, such irregular diapause-related phenomena are discussed from the point of view of ecological significance, based on information of field observations.

Key words *Hestina assimilis assimilis*, alien species, low temperature, larval diapause, body color change, opportunistic life cycle strategy.

蝶類を始めとする昆虫の発育や休眠は遺伝的基盤を持ち, 生息地の気候や季節の変化に適応して進化してきたものである (ダニレフスキー, 1961; Tauber *et al*., 1987; Danks, 1987). 一般に, 休眠とリンクして, またはそれに先行してさまざまな発育変化や生理的または形態的変化 (たとえば, 発育遅延や耐寒性, 体色変化や季節型など) が起こることが知られており, これらの反応は Tauber *et al*. (1987) により diapause syndrome と名付けられた. 休眠は内因性と外因性の場合があるが, 後者の場合その誘起を制御する環境要因としては, 光周期, 温度, 栄養条件, 降水量などの関与が明らかにされてきた. 冷温帯域に生息する多くのチョウ類では休眠を制御する主要因としては光周期の役割が重要であり, 温度などその他の条件は臨界日長や休眠率を変更する因子として 2 次的であると位置づけられている (正木・矢田, 1988; 加藤・遠藤, 2005).

十数年ほど前に神奈川県において発見されたアカボシゴマダラは, 我が国在来の亜種ではなく中国大陸由来の亜種とみなされている (岩野, 2005: 白水, 2006; 岩野・菅井, 2007). 最近では, 近隣の東京都や埼玉県に進出しその個体数を急激に増加させている. 本個体群がこのように比較的短期間の間に急激に個体数を増加させた原因として, 環境への適応性, 競争者との関係, 内的繁殖力などいろいろの観点から推測されている. 我々はこの「神奈川県産」アカボシゴマダラの季節適応について一連の

実験を行ない, 幼虫の休眠や成虫の季節型は幼虫期により感受される日長と温度により決定されることを明らかにした (加藤・宮内, 2008; 加藤ら, 印刷中). しかし, 我が国の温帯域に生息する在来種と比較すると, 本種の光周反応は温度の影響を受けやすく, たとえば, 本種の幼虫を短日条件下で25°Cという比較的高い飼育温度環境下では, 20°Cの場合と比べて幼虫の休眠率が半減する. 一方, より低い温度に対しては光周期にかかわらず高い休眠率を示すようである. このような温度による休眠誘起の大幅な変更は日本産チョウ類ではあまり報告されていない (正木・矢田, 1987). それゆえ, 本個体群の幼虫の発育や休眠に対する温度の役割を明らかにすることは本亜種の原産地の推定, 未経験の土地への侵入・定着やそこでの分布拡大の要因を理解する上で重要な意義を持つものと推測される. 本論文では, 温度 (特に, 15°Cのような低温) が休眠率のみならず, 休眠のタイミングや体色変化に多大な影響を与えることを示し, さらにこのような日和見と思われる反応の生態的意義について考察する.

材料と方法

2007年6–10月および2008年5-8月に鎌倉市および藤沢市において採集したアカボシゴマダラ *H. assimilis assimilis* の成虫雌を室内において産卵させ, その子孫を実験に用いた. 1齢幼虫はプラスチックカップ (直径6 cm×深さ4 cm) 内において数頭のグループで飼育した. 2齢から4齢までは同じサイズの容器内において1頭ずつ飼育し, 5齢からは別の大きさのカップ (直径11 cm×深さ6 cm) に移した. 幼虫の餌にはエノキ *Celtis sinensis* (一部にはタイワンエノキ *C. formosana*) の生葉を与え, 1–2日毎に新しい葉と交換した.

幼虫は長日日長 (16L-8D) のもとで様々な温度環境下 (15°C, 20°C, 25°C) で飼育したが, 一部は短日日長 (10L-14D) 下での飼育も行なった. 幼虫の脱皮と蛹化の有無を毎日記録した. 休眠個体の判定は歩行および摂食活動の停止を基準とした. しかし, 前回の報告 (加藤・宮内, 2008) とは異なり, このような飼育条件下では, 休眠はかならずしも角状突起の長さや体色変化にリンクしていなかった.

幼虫の角状突起 (L) は頭部幅 (W) との比率 (L/W=*X*) から, 前報 (加藤・宮内, 2008) 同様に汐津 (1977) の方法に基づいてノギス (ミツトヨ社製) で測定し, 短角型と長角型を区別した. 今回はさらに, 両者の中間的な長さの突起を持つ幼虫を中間型と分類した. すなわち, X=≤1.1を短角型, 1.1<X<1.4を中間型, X≥1.4を長角型と分類した. 休眠幼虫の体色に関しては, 褐色と緑色の他に両者の中間的な色彩である暗緑色の3段階に分類した (Fig. 1).

結　果

幼虫休眠の誘起と休眠齢期に対する温度と日長の影響

中温 (20°C) および高温 (25°C) 飼育の場合, 長日日長下では休眠はまったく誘起されず, 短日日長下では高率で休眠が誘起されたが, その頻度は高温では減少した. 休眠齢期はほとんど4齢であった. 一
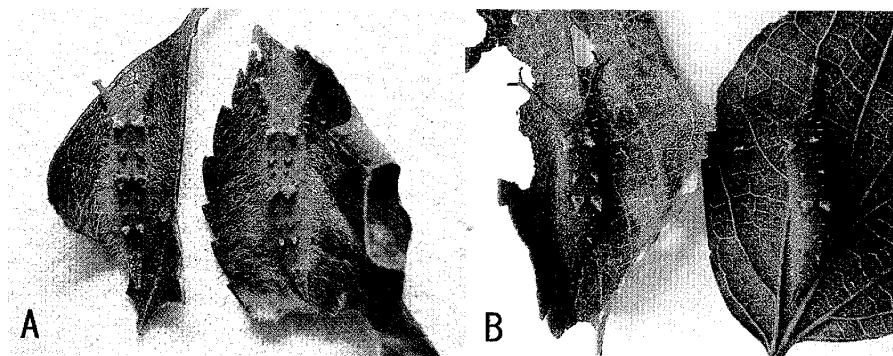
Fig. 1. Fourth-instar diapause larvae of *Hestina assimilis assimilis* obtained in the rearing experiments. A. A brown larva (left) and light-green larva (right) of short horn type. B. A dark-green larva (left) and light-green larva (right) of long horn type.

Table 1. Influence of temperature and photoperiod on diapause induction in the larvae of *Hestina assimilis assimilis*.

Temperature (°C)	Photoperiod	*N*	No. diapausing larvae IV	V	Diapause (%)
15	10L	25	25	0	100
	16L	24	19	2	87.5
20	10L	24	24	0	100
	16L	25	0	0	0
25	10L	25	9	1	40
	16L	25	0	0	0

Roman numerals. Instar number at the time when larvae entered a diapause state.

方, 低温 (15°C) 飼育の場合には, 短日日長下はもとより長日日長下でも高い頻度で休眠が誘起された (Table 1). 休眠齢期は主に4齢であったが, 5齢期での休眠も少数生じた.

休眠に入った幼虫の形態は, 短日日長下ではいずれの温度飼育でも休眠齢期に関わらずすべて短角型であった. 一方, 低温・長日日長で誘起された休眠幼虫では短角型が多かった (12/21) が, 一部には中間型 (5/21) や長角型 (4/21) も出現した.

休眠誘起に対する部分的低温飼育の影響

1) さまざまな幼虫齢期からの継続的低温処理

2齢, 3齢および4齢への脱皮齢期から15°Cに移行させて飼育した場合には, 休眠が誘起され, その割合

Table 2. Effect of larval transfer to cool temperature (15°C) on larval diapause induction at various stages in *H. assimilis assimilis*.

Larval transfer to 15°C (Instar)*	*N*	No. diapausing larvae IV	V	Diapause (%)
2nd–	38	22	10	84.2
3rd–	42	20	7	64.3
4th–	43	4	7	25.6
5th–	31	0	0	0

*Larvae were transferred to 15°C at various instars and then kept there till adult eclosion. Photoperiod was 16L-8D through experiments. Other explanations are the same as in Table 1.

Table 3. Effect of cool temperature (15°C) at various larval stage(s) on diapause induction in *H. assimilis assimilis*.

Developmental stage(s) kept at 15°C	*N*	No. diapausing larvae IV	V	Diapause (%)
1st+2nd	20	0	0	0
3rd+4th	17	0	1	5.9
1st	14	0	0	0
2nd	13	0	0	0
3rd	21	0	0	0
4th	16	0	0	0
5th	17	0	0	0

Larvae were kept at 20°C before and after cool temperature treatment. Other explanations are the same as in Table 2.

はお移行齢期が早いほど, 高かった (Table 2). しかし, 5齢脱皮時からの低温への移行は休眠誘起には無効であった. 休眠齢期については, 低温への移行が遅くなるほど4齢休眠の幼虫は減少し, 5齢休眠の幼虫が増加した. 4齢期からの移行では5齢休眠のみであった.

休眠幼虫における角状突起の形態は低温への移行時期により変動し, 2齢からの場合では短角型21/32, 中間型6/32, 長角型5/32であり, 3齢からの場合では短角型16/27, 中間型4/27, 長角型7/27となり, 4齢からの場合では短角型1/11, 中間型5/11, 長角型5/11となった.

2) 各齢単独または2つの齢期間のみ低温処理

Table 3に示すように, 1齢から5齢にわたり各齢期単独で15°Cの低温下で飼育したところ, 処理期間中の幼虫の発育は遅くなったがいずれの場合でも休眠は誘起されなかった. 4齢幼虫の頭部形態もすべて長角型であった. また, 1–2齢, 3–4齢期間の低温処理もほとんど休眠の誘起には効果がなかった.

休眠幼虫における角状突起の形態と体色の関係

Fig. 2は, 短日または長日日長を経験した休眠幼虫の角状突起の形態と体色の関係を示す. 短日を経験した休眠予定幼虫はいずれの飼育温度の場合でも次第に摂食活性を低下させ成長遅延を示した. それと共に体色も次第に明緑色からくすんだ緑色を経て褐色へと変化したが, 一部には明緑色や暗緑色の状態で休眠した幼虫もみられた.

一方, 長日を経験しているが, 低温により休眠を誘起された幼虫の体色は多様な変異を示した. すなわち, 短角型幼虫では褐色となるものが多かったが, 中には褐色に達することなく明緑色のまま摂食や運動を停止し休眠に入るか, または中間的な色彩である暗緑色で休眠するものも出現した. この傾向は中間型や長角型幼虫ではさらに顕著となり, これらの幼虫では短角型のような典型的な褐色を呈することはほとんどなかった.

議　論

本研究は, 外来種である「神奈川県産」アカボシゴマダラにおける幼虫休眠の誘起における日長と温度の関与を, 前報 (加藤・宮内, 2008) に引き続き再実験したものである. 今回の実験では, 特に低温
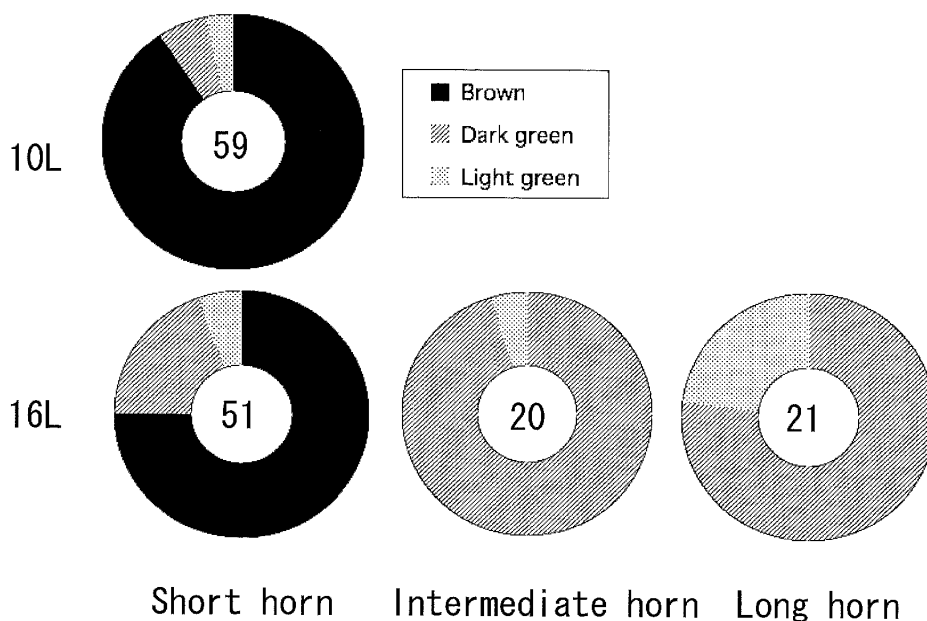
Fig. 2. Relationship between horn type and body color in the diapause larvae of *H. assimilis assimilis* reared under a short and long photoperiod at various temperature conditions. Numerals within circles show sample size.
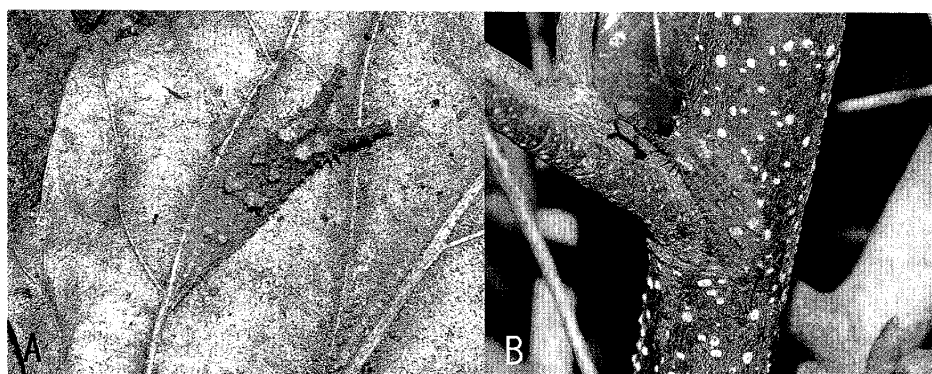
Fig. 3. Overwintering larvae of *H. assimilis assimilis* observed in the field of Yamato-shi, Kanagawa Prefecture in March 2008. A. A 4th instar green color larva of short horn type. B. A 5th instar greenish-brown color larva of long horn type. (By courtesy of Mr Takatsugu Yamazaki, who took these pictures.)

による幼虫発育や休眠のプログラムへの影響に力点が置かれた.

本実験においても, 前報 (加藤・宮内, 2008) 同様に20°Cの温度条件下では短日は4齢において100%の短角型幼虫の出現を誘起し, それらの幼虫はすべて褐色化し休眠に入った. また, より高い温度 (25°C) 条件下では短日でも半数以下の個体しか休眠に入らなかった. 一方, 15°Cというより低い温度条件下では短日日長はすべての幼虫が短角型となり, 褐色化してふつうに休眠したけれども, 長日日長下においても高率で幼虫休眠が誘起された. これらの中には, 短角型となり褐色化後休眠に入った個体の他に, 中間型や長角型で休眠したものや体色が緑色で休眠したものも出現した. 休眠齢期は大体4齢であったが, 5齢の個体も少数生じた. さらに, 長日日長下における部分的期間の低温飼育実験から, 単独齢での低温は休眠を誘起しないが, ある程度の連続的な低温飼育は処理期間の長さに応じて, 休眠率を上昇させることが明らかとなった. この場合, 短角型となった幼虫は褐色化する個体が多かったが, 長角型幼虫は明緑色または暗緑色で休眠することが多かった. 本種を含むコムラサキ亜科におけるこれらの形態的特徴 (角状突起や体色変化) の発現調節は何らかの内分泌支配を受けていることが予想される (Tauber *et al*., 1987) が, 現在までその仕組みはほとんど明らかにされていない.

これらのことから, 神奈川県に侵入し定着しているアカボシゴマダラ名義亜種の幼虫は, 環境条件, 特により高い温度や低い温度に対して反応してかなり柔軟に発育プログラム (角状突起の形態, 体色変化, 摂食停止) を変更する能力, すなわち「日和見的」な生活史戦略を有することが示唆される. この点は, 前報 (加藤・宮内, 2008) でも議論したように, これらの特徴は暖温帯または亜熱帯域に生息する蝶類に特有であると共に, 在来の1化性種, オオムラサキとは対照的である (Kato & Hasegawa, 1984; 加藤, 1984; Kato, 1987).

しかし, このような低温・長日日長による短角型幼虫や休眠幼虫の出現は年に複数回発生する在来種, ゴマダラチョウにおいても報告されている (汐津, 1977) ので, このような反応は外来種特有というわけでもなさそうである. また, ゴマダラチョウの幼虫休眠に対する高温・短日日長の影響は知られていない. 現在, これらの2種の幼虫について比較実験を行なっているところであり, 成長や休眠の反応について微妙な差異が存在することが判明しつつある (加藤, 未発表). このようなアプローチの研究は, 外来種の生態や生理を理解する上で必要であるのみならず, これまで気づかれなかった在来種の特徴を再認識する上でも重要であることが推察される.

本実験において, 前述したように長日日長と組み合わせた低温条件下での飼育により, 長角型の休眠幼虫 (緑色) や短角型だが体色は緑色の休眠幼虫がかなりの割合で出現した. このような幼虫の越冬能力や耐寒性は十分にあるのか. さらに, このような幼虫は自然環境下においても出現することがあるのだろうか. 若林 (1992) によると, 香港産の個体群 (名義亜種) の越冬幼虫が経験する冬 (1月頃) の平均気温が15°C位であるので, おそらくそれらの越冬幼虫に長角型や緑色を示すもの含まれていると推測されるが, 詳しい記述はされていない. 最近, このような特徴の幼虫が少数であるが, 関東地方の野外においても観察されている (針谷・岩野, 2008). また3月においてもその生存が確認され (Fig. 3), さらには一部の幼虫は春に成長を再開し, 蛹化・羽化する個体もみられている (山崎, 私信) ので, 十分の越

冬能力は持っているものと推測される．さらに，一部の幼虫は春に成長を再開し，蛹化・羽化もみられているという．今後，耐寒性を含めて本種幼虫の越冬状況ならびに越冬後のさらなる調査が期待される．

謝　辞

本研究を行うにあたり，材料昆虫や食草，その他情報の入手にあたり菅井忠雄，芦澤一郎，丸山充夫，山﨑隆嗣，柳本茂，山本嘉彰，中村なおみ，鈴木勝，手代木求の諸氏 (順不動) に大変お世話になりました．この場を借りて深謝致します．

文　献

ダニレフスキー，ア・エス，1961，日高敏隆・正木進三 (訳) 1966．昆虫の光周性．東京大学出版会，東京．
Danks, H. V., 1987. *Insect Dormancy*: *an ecological Perspective*. Biological Survey of Canada, Ottawa.
岩野秀俊，2005．神奈川県におけるアカボシゴマダラの分布拡大の過程．昆虫と自然 **40** (4): 6–8.
岩野秀俊・菅井忠雄，2007．神奈川県に侵入したアカボシゴマダラの分布拡大．昆虫と自然 **42** (7): 18–21.
針谷　毅・岩野秀俊 (編)，2008．相模の記録蝶 No. 22．相模の蝶を語る会．相模原．
加藤義臣，1984．オオムラサキ幼虫の光周反応．昆虫と自然 **19** (6): 2–5.
Kato, Y., 1987. Role of photoperiod in larval growth of *Sasakia charonda* (Lepidoptera, Nymphalidae). *Jap. J. Ent*. **57**: 221–230.
加藤義臣・遠藤克彦，2005．季節適応．本田計一・加藤義臣 (編)，チョウの生物学: 379–419．東京大学出版会，東京．
Kato, Y. and Y. Hasegawa, 1984. Photoperiodic regulation of larval diapause and development in the nymphalid butterfly, *Sasakia charonda* (Lepidoptera, Nymphalidae). *Kontyû*, *Tokyo* **52**: 363–369.
加藤義臣・宮内　司，2008．「神奈川県産」アカボシゴマダラ幼虫の発育と休眠に対する光周期と温度の影響．蝶と蛾 **59**: 293–300.
正木進三・矢田　脩，1988．蝶の季節適応と光周性．日本鱗翅学会特別報告 (6): 341–383.
汐津美文，1977．福岡市におけるゴマダラチョウの生活環におよぼす温度と日長の影響．日生態誌 **24**: 5–12.
白水　隆，2006．日本産蝶類標準図鑑．学研，東京．
Tauber, M. J., Tauber, C. and S. Masaki, 1986. *Seasonal Adaptations of Insects*. Oxford University Press, New York.
若林増樹，1992．香港のアカボシゴマダラ白化の謎．*Butterflies* (1): 44–49.

Summary

1) Larval development and diapause of the nymphalid butterfly *Hestina assimilis assimilis* accidentally introduced into the Kanagawa Prefecture, central Japan, and then inhabiting there, were re-investigated in laboratory conditions. In particular, influence of low temperature was studied.

2) Wild adult-females were caught from June through September, 2007 and 2008 in the Kanagawa Prefecture, and then their offspring were used for the rearing experiments.

3) At 20°C or 25°C, larval diapause induction was induced at high ratio under a short photoperiod of 10L-14D while no diapause was induced under a long photoperiod of 16L-8D, as shown in the previous paper (Kato and Miyauchi, 2008). At 15°C, however, when larvae were kept even under 16L-8D, diapause induction ratio became high. Of course diapause ratio was inevitably 100% under 10L-14D.

4) Larval diapause was also induced even when larvae were exposed to 15°C from 2nd or 3rd or 4th instar stage under a long photoperiod but not found when they were exposed singly at each larval instar.

5) Further, diapause larvae produced under low temperature combined with long photoperiod frequently showed irregular characters in head horn type and body color, which are usually seen in non-diapause larvae.

6) These results suggest that larvae of *H. assimilis assimilis* introduced to central Japan possess an opportunistic life cycle strategy including the response to relatively low (or high) temperature environment.

7) Finally, adaptive significances of these phenomena are discussed based on information obtained in the fields.

(Accepted December 5, 2008)

Published by the Lepidopterological Society of Japan,
5-20, Motoyokoyama 2, Hachioji, Tokyo, 192-0063 Japan